

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 02-091022
(43)Date of publication of application : 30.03.1990

(51)Int.Cl.

A61K 31/52
// C07D405/04
C07D473/06
C07D473/16
C07D473/18
C07D473/22
C07D473/24
C07D473/28
C07D473/30
C07D473/32
C07D473/34
C07D473/34
C07D473/38
C07D473/40
(A61K 31/52
A61K 31:655
A61K 31:505)

(21)Application number : 01-145534

(71)Applicant : UNIV MINNESOTA
SOUTHERN RES INST

(22)Date of filing : 09.06.1989

(72)Inventor : VINCE ROBERT
SHANNON WILLIAM M

(30)Priority

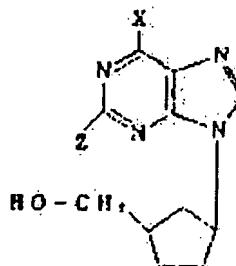
Priority number : 88 205163 Priority date : 10.06.1988 Priority country : US

(54) DIDEOXYCARBOCYCLIC NUCLEOSIDE COMBINED WITH AZT OR RIBAVIRIN

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a formulation useful for treating tumors involved in viral infection or virus, comprising AZT or ribavirin and dideoxycarbocyclic nucleoside.

CONSTITUTION: This formulation is a combination of (A) a 1st antiviral compound of the formula (X is H, NRR1, SR, OR or a halogen; Z is H, OR2 or NRR1; R, R1 and R2 are each H, a 1-4C alkyl or aryl) or pharmaceutically permissible derivative therefrom, e.g. (1a,4a)-4-(2-amino-6-hydroxy-9H-purin-9-yl)-2- cyclopentenyl carbinol with (B) a 2nd antiviral compound selected from the group consisting of 3'-azido-3'-deoxythymidine, ribavirin, 3'-azido-2',3'- dideoxyuridine and 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidine in the weight ratio of (20:1) to (1:20), esp. (3:1) to (1:3). Preferably the dose of this formulation is such one as to be 1-75 (esp. 3-30) μ M in each plasma level for the ingredients A and B.



⑫ 公開特許公報 (A) 平2-91022

⑬ Int.Cl.⁶
A 61 K 31/52識別記号
ADY庁内整理番号
7375-4C※

⑭ 公開 平成2年(1990)3月30日

審査請求 未請求 請求項の数 6 (全23頁)

⑮ 発明の名称 AZTまたはリバビリンと組み合わせたジデオキシ炭素環式ヌクレオシド

⑯ 特 願 平1-145534

⑰ 出 願 平1(1989)6月9日

優先権主張 ⑯ 1988年6月10日 ⑰ 米国(US) ⑯ 205,163

⑱ 発明者 ロバート・ピングス アメリカ合衆国ミネソタ州(55118)セントポール、ヒルトツブロード782

⑲ 出願人 リージヤンツ・オブ・ザ・ユニバーシティ、オブ・ミネソタ アメリカ合衆国ミネソタ州(55455)ミネアポリス、チャーチストリートサウスイースト100

⑳ 代理人 弁理士 高木 千嘉 外2名

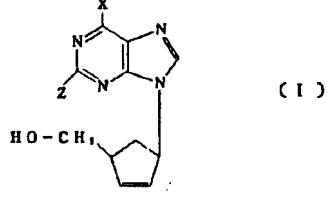
最終頁に続く

明細書

1. 発明の名称 AZTまたはリバビリンと組み合わせたジデオキシ炭素環式ヌクレオシド

2. 特許請求の範囲

1) ウィルス感染またはウィルスが関連した腫瘍の治療において、同時に、逐次的に、または単独で使用するための式(I)



(式中、

Xは、水素、NRR¹、SR、ORまたはハロゲンであり、Zは、水素、OR²またはNRR¹であり、R、R¹およびR²は、同じかまたは異なって

おり、水素、C₁₋₄アルキルおよびアリールからなる群より選択される)で示される第1の抗ウイルス化合物およびその薬学的に許容され得る誘導体の1つまたはそれ以上と、そして、3'-アジド-3'-デオキシチミジン、リバビリン、3'-アジド-2',3'-ジデオキシリジンおよび2',3'-ジデオキシ-2',3'-ジデヒドロチミジンから成る群より選択される第2抗ウイルス化合物の1つまたはそれ以上とから成る生成物。

- 2) 式(I)の化合物が(1a, 4a)-4-(2-アミノ-6-ヒドロキシ-9H-ブリシン-9-イル)-2-シクロベンテンニルカルビノールである請求項1記載の生成物。
- 3) 式(I)の化合物が(1S, 4R)-4-(2-アミノ-6-ヒドロキシ-9H-ブリシン-9-イル)-2-シクロベンテンニルカルビノールである請求項2記載の生成物。

4) 第2の抗ウイルス化合物が3'-アジド-3'-デオキシチミジンである請求項3記載の生成物。

5) 式(I)の化合物の第2の抗ウイルス化合物に対する比が20:1~1:20である、前記請求項の何れかの項に記載の生成物。

6) ウィルス感染またはウィルスに関連した癌の治療に使用するための、請求項1~3の何れかの項に記載の式(I)の化合物の1つまたはそれ以上と、3'-アジド-3'-デオキシチミジン、リバビリン、3'-アジド-2',3'-ジデオキシウリジンおよび2',3'-ジデオキシ-2',3'-ジデヒドロチミジンから選択される抗ウイルス化合物の1つまたはそれ以上とからなる医薬組成物。

3.発明の詳細な説明

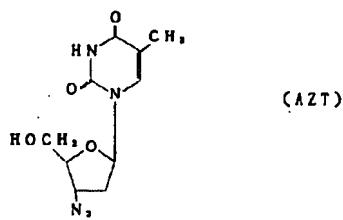
本発明は、特定のジデオキシ炭素環式スクレオシドと抗ウイルス活性を示す抗ウイルス剤

AZT、リバビリン、D4T、DDIまたはCSB7との組み合わせに関する。

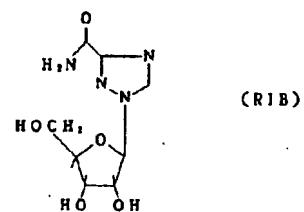
ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染の全身的な治療に有用な薬剤を発見するための非凡な努力が払われているにも拘わらずかかる感染症は、化学療法に対して、異常に耐性のものであった。細胞内およびウイルス複製の核代謝との密接な関係が宿主細胞に修復することのできない損傷を与えることなしにウイルスを破壊することを困難にしている。

抗ウイルス活性のビダラジン(9-β-D-アラビノフランアデニンモノハイドレート)の発見は多數の合成スクレオシドの製造を誘導した。今日まで唯一の合成スクレオシド、3'-アジド-3'-デオキシチミジン(AZT)が特定のAIDS患者を治療するために承認されたが、しかしそれは一時的緩和剤であって治療剤ではない。

ウイルスの複製を阻止しAIDS患者における免疫機能を改善した。AIDS関連合併症(ARC)の患者における長期にわたる研究は進行している。

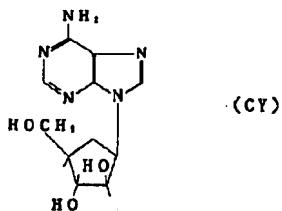


AZTはレトロウイルスに対して、特に活性であるが、その使用は、貧血、頭痛、意識混濁、不安、吐き気そして不眠症などの副作用をもたらした。AZT類似体である3'-アジド-2',3'-ジデオキシウリジン("AzddUrd"または"CS-87")もまたインビトロでHIVに対して顯著な活性を有することが見い出され、現在は、臨床実験において、AIDSの治療に関して効能が評価されている。リバビリン(RIB)は、子供のラウス肉腫ウイルス(RSV)によってひき起こされたウイルス性呼吸器感染症を治療するために使用されてきた。初期の臨床実験において、それはウ



ペントース糖をトリス(ヒドロキシ)置換シクロペンテル残基で置き代えたものである、アデニン("6-アミノーブリン")スクレオシド類似体の合成は、実質的な細胞毒および抗ウイルス活性を有する化合物を生成した。例えば、ビダラビンの炭素環式類似体である、シクララジン(CY)は、ヘルペスシンプレツクスウイルス型2(HSV-2)に対して高い活性を示すが、しかし、HIVに対してはインビトロでの治療効

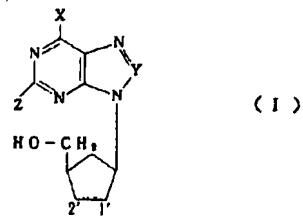
数 ($T_{100} = 10$) は低い。



T.L.Nagabhusanら(米国特許第4,636,383号)は、シクララジンとヨーインターフェロンとの組み合わせは、HSV-2感染症に対して、その効能において、共作用的な増加を示すことを開示している。

2',3'-ジデオキシノシン("ddI")もまた、インビトロでHIVに対して、重要な抗ウイルス活性を有することが示された。

Vinceら(1988年1月20日出願の米国特許出願書号第07/146,262号)は、新規な群の一般式(I):



(式中、

ZはH、OHまたはNH₂であり、

YはCHまたはNであり、

C_{1'}····C_{2'}で示される結合は、存在しないかまたはC_{1'}—C_{2'}結合と組み合わせてCH—CH単位であり、そして

Xは、H、N(R)₂、SR、ORまたはハロゲン(ここでRはH、低級(C₁~C₄)アルキル、アリールまたはその混合物である)から成る群より選択されたものである)。

の抗ウイルス性および抗腫瘍性化合物そしてその薬学的に許容され得る塩を開示した。

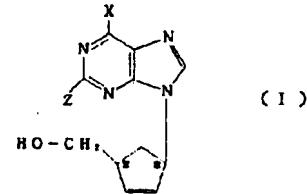
一般に、単独で用いられた場合、式(I)の化合物は、ヘルペスシンプレツクスウイルス型1(HSV-1)に対して活性ではないが、それらの幾つかは、HSV-2、ヒトサイトメガロウイルス(HCMV)のような他のウイルスおよび/またはHIVのようなレトロウイルスに対して、特異的な抗ウイルス活性を示す。とりわけ、XがOHであり、ZがNH₂であり、YがCHであり、そして、結合—が存在する式(I)の化合物(14a)は、インビトロで強くHIVの感染症を阻止する。しかしながら、AZTの炭素環式類似体は、HIVに対して不活性であり、製造され、そして試験された、各種の置換された炭素環式スクレオシド間の、構造—活性関係は、不明確なままであることは明らかである。

従って、HSV-2、HIV、EBV、帯状水痘(Variella-zoster)、ワクシニア、ヒトサイトメガロウイルス(HCMV)などのようなウイルスによ

る感染から、哺乳動物細胞を保護するのに有効な化学療法用剤が実質的に必要とされている。

本発明は、炭素環式抗ウイルス剤と、他の抗ウイルス剤との共作用的組み合わせ、かかる組み合わせの治療における使用、そして、かかる抗ウイルス剤の組み合わせからなる医薬剤に関する。

従って、本発明の1つの態様によれば、式(I)



(式中、

Xは、水素、N(R)₂、SR、ORまたはハロゲンであり、

Zは、水素、OR²またはN(R)₂であり、

R、R'およびR²は、同じかまたは異なっており、水素、C₁₋₁₀アルキルおよびアリールからなる群より選択される)

の炭素環式化合物およびその薬学的に許容され得る誘導体と、AZT、リバビリン、3'-アジド-2',3'-ジデオキシウリジン("AzddUrd"または"CS-87")および2',3'-ジデオキシ-2',3'-ジデヒドロチミジン("dddTdh"または"d4T")から選択された抗ウイルス性化合物との組み合わせが提供される。

式(I)の化合物は、シス化合物であり、さらに、そのシクロペンテン環は、2個のキラル中心(式(I)において*印で示される)を含有し、それ故、2個の光学異性体(すなわちエナンチオマー)およびラセミ混合物を包含するその混合物の形態で存在することを、当業者は理解されよう。かかる異性体およびラセミ混合物を包含する、その混合物は、すべて、本発明の範囲

で言及する場合は、式(Ia)の化合物を包含する。

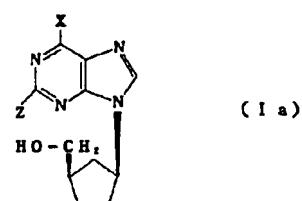
ある種の式(I)の化合物は、幾つかの互変異性形態として存在し、かかる互変異性体は、すべて本発明の範囲内に包含される。

本明細書で使用される「ハロゲン」なる用語は、フッ素、塩素、臭素およびヨウ素を示し、Xがハロゲンである場合は、好ましくは、塩素である。

「C₁₋₁₀アルキル」なる用語は、直鎖または分枝鎖のアルキル基、例えば、メチル、エチル、n-ブロピル、i-ブロピル、n-ブチル、sec-ブチルおよびi-ブチルを示す。好都合には、C₁₋₁₀アルキルはメチルである。

「アリール」なる用語は、何れかの、単環式または多環式芳香族部分を示し、未置換のおよび置換されたアリール(例えば、フェニル、トリル、キシリル、アニシル)、並びに、未置換

内に包含される。従って、式(I)の化合物において、塩基が結合しているキラル中心はR配置であり、そして、CH₂OH部分が結合しているキラル中心はS配置である(以後、D異性体と称する)か、または、塩基が結合しているキラル中心はS配置であり、そして、CH₂OH部分が結合しているキラル中心はR配置である(以後、L異性体と称する)。好都合には、化合物は、ラセミ混合物または実質的には、純粋なD異性体の形態で存在する。D異性体は、式(Ia)



(式中、XおよびZは、式(I)で定義されたとおりである)。

で表わされる。以後、式(I)の化合物につい

のおよび置換されたアラルキル(例えば、ベンジルまたはフェネチルのようなC₁₋₁₀フェニルアルキル等の、アルキル部分がC₁₋₁₀のアラルキルを包含する)を包含する。

式(I)の化合物において、Zは好ましくはアミノである。

好ましい式(I)の化合物群において、XはOR、特にOHである。

さらに好ましい式(I)の化合物群において、XはNRR'(特にNH₂)または水素である。

特に好ましい式(I)の化合物は、式中、ZがNH₂であり、XがH、NH₂または特にOHであるものである。特にかかる化合物は、抗ウイルス剤として、とりわけ優ましい治療効果を有する。

「薬学的に許容され得る誘導体」とは、式(I)の化合物またはレシピエントへの投与により、式(I)の化合物または抗ウイルス活性代謝産物またはその残基の(直接的にまたは間接的に)

供給が可能である他の化合物の、薬学的に許容され得る塩、エステルまたはかかるエステルの塩を意味する。

式(I)の化合物の好ましいエステルは、エステル基の非カルボニル部分が、水素、直鎖または分枝鎖のアルキル（例えば、メチル、エチル、n-ブロピル、n-ブチル、n-ブチル）、アルコキシアルキル（例えば、メトキシメチル）、アラルキル（例えばベンジル）、アリールオキシアルキル（例えばフェノキシメチル）、アリール（例えば、場合によっては、ハロゲン、C₁₋₄アルキルまたはC₁₋₄アルコキシによって置換されたフェニル）から成る群より選択されるものであるカルボン酸エステル；アルキルまたはアラルキルスルホニル（例えば、メタニスルホニル）のようなスルホホートエステル；アミノ酸エステル（例えば、L-バリルまたはL-イソロイシル）およびモノ-, ジーまたはト

リホスフエートエステルを包含する。

上記のエステルに関して、特に断りがない限り、存在するアルキル部分は、有利には1～18個の、特に1～4個の炭素原子を含有する。かかるエステル中に存在する何れのアリール部分も有利には、フェニル基を含有する。

式(I)の化合物の薬学的に許容され得る塩は、薬学的に許容され得る無機および有機の酸および塩基から誘導されたものを包含する。好適な酸の例としては、塩酸、シユウ酸、硫酸、硝酸、過塩素酸、フマル酸、マレイン酸、リン酸、グリコール酸、乳酸、サリチル酸、コハク酸、トルエン-*P*-スルホン酸、酒石酸、酢酸、クエン酸、メタンスルホン酸、ギ酸、安息香酸、マロン酸、ナフタレン-2-スルホン酸およびベンゼンスルホン酸が挙げられる。シユウ酸のようなその他の酸は、それ自体は薬学的に許容され得ないが、本発明の化合物およびその薬学的

に許容され得る融付加塩を得る際に、中間体として有用な塩の製造において有用であり得る。

適当な塩基から誘導された塩は、アルカリ金属（例えば、ナトリウム）、アルカリ土類金属（例えば、マグネシウム）、アンモニウムおよびNR₄⁺（RがC₁₋₄アルキルの場合）塩を包含する。

以後、本発明の化合物を言及する場合は、式(I)の化合物およびその薬学的に許容され得る誘導体の両方を包含する。

式(I)の特定の化合物は、ラセミ混合物または単一のエナンチオマーの形態で存在する。

(1a, 4a)-4-(6-クロロ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール；

(1a, 4a)-4-(6-ヒドロキシ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール；

(1a, 4a)-4-(6-アミノ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール；

(1a, 4a)-4-(6-メルカブト-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール；

(1a, 4a)-4-(2-アミノ-6-クロロ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール；

(1a, 4a)-4-(2-アミノ-6-ヒドロキシ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール；

(1a, 4a)-4-(2,6-ジアミノ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール；

を包含する。

本発明の組み合わせに使用するのに好ましい式(I)の化合物は、上記の(1a, 4a)-4

-(2-アミノ-6-ヒドロキシ-9H-ブリ
ン-9-イル)-2-シクロベンテニルカル
ビノールであり、特に好みいのは、そのD-
異性体である。

とりわけ、XがOHであり、ZはNH₂であり、
そしてR'はHである式(I)のラセミ化合物(14a)
は、強くインピトロでHIVの感染性を阻止する。
この化合物のT_{1/2}は、抗-HIV活性のアツセ
イに用いられた感染した細胞系列で変化したが、
しかし、一般には、200~400の範囲内にあり、
そしてあるアツセイで、667という高い値が測
定された。14aの1a-アセテートエステルも
また、HIVに対して活性を示し、6μg/mlで28%
抑制した。化合物14aもまたHSV-1に対して活
性である。

XがOHであり、ZがNH₂である、完全に分割
された式(I)のD異性体((-)14a, [(1S,4R)
-4-(2-アミノ-6-ヒドロキシ-9H-

AZT、リバビリン、d4T、CS-87または式(I)
の化合物の何れかの3'-(ヒドロキシメチル)
基のアルカノイルまたは(アルコキシ)アルカ
ノイルエステルもまた、本発明の配合剤に使用
することができ、効能が増大するかもしれない。
例えば、Vince(米国特許第4,362,729号)を参
照されたい。これは、シクララジンの塩および
抗ウイルス性アルコキシアルカノエートエステ
ルが開示されており、本明細書に引用例として
取り入れる。

驚くべきことに、本発明の組み合わせは、イ
ンピトロでHIVに対して、共作用的抑制活性を
示す。換言すれば、第2~6図に示すように、
AZT、リバビリン、CS-87またはd4Tの何れかと、
好みい式(I)の化合物である14aとの組み合
わせは、HIVに対して抑制効果を示し、それは、
AZT、リバビリン、CS-87、d4Tまたは14aを單
独で用いた時の等量の効果よりも実質的に大き

プリン-9-イル)-2-シクロベンテニルカル
ビノール]もまたHIVに対して高い活性を
示す。XがClまたはNH₂であり、YがCHであり、
ZがNH₂であり、そしてR'がHである式(I)の
化合物(それ13aおよび15aである)もまた、
XがCl、NH₂またはSHであり、ZがHであり、
そしてR'がHである化合物(それ7a、9a
および10a)がそうであるように、HIVに対して
活性である。抗ウイルス活性は、正常な哺乳動
物細胞を感染するウイルスの能力における抑制
効果によるものと考えられている。

式(I)の化合物と第2の抗ウイルス剤は、広
範囲の比率にわたって、例えば、1:20~20:
1、好みくは1:5~5:1、特に約1:3
~3:1で共作用的である。好都合には、各化
合物は、それが単独で用いられた時に、抗ウイ
ルス活性を示すような量が組み合わせに使用さ
れるであろう。

かった。一方、第7図に示すように、(a)式(I)
の化合物、(-)14aおよび(b)ddIの組み合せ
はインピトロでHIVに対して、同様の共作用的
抗ウイルス活性を示さなかった。この特別な組
み合せは、インピトロでHIVに対して、その
抑制効果において、付加的であることを示した
だけである。即ち、インピトロでウイルスに対
しての活性が確認された抗HIV剤のすべてが、
式(I)の化合物と組み合わせて共作用的な抗ウ
イルス活性を示すとは限らないであろう。ビリ
ミジンスクレオシド類似体(例えばAZT、CS-
87およびd4T)は、式(I)の化合物と組み合わ
せて、HIVおよび関連のレトロウイルスに対
して共作用的な抗ウイルス活性を達成するため
に用いるのに、プリンスクレオシド類似体(例え
ばddI)よりも明らかに好みい。

(a)14aの分割されたエナンチオマー、(-)14a
と(b)CS-87、d4T、またはAZTとの組み合せ

は、それぞれ第5、6図および第8図に示すように、インビトロでHIVに対して、その活性において、有意な共作用を示した。従って、式(I)の化合物の分割された(-)エナンチオマーは、これらの他の抗ウイルス剤と組み合わされた場合、HIVに対して共作用的な抗ウイルス性効果を生み出すラセミ混合物として、少なくとも有効的である。抗ウイルス組み合わせにおける式(I)の化合物の分割された(-)エナンチオマーの使用もまた、本発明の範囲内に含まれる。

従って、本発明の配合剤は、一般に、ヒトのウイルス感染症またはウイルス関連腫瘍に対して有用であることが予想され、インビトロまたはインビーポでのウイルス感染症または腫瘍成長を抑制するためにこれらを使用する方法もまた、本発明の範囲内に含まれる。

従って、本発明の別の態様によれば、式(I)

確定された感染または症状の治療だけでなく、予防にまで拡大されることを当業者は理解されよう。

さらに、治療に必要とされる本発明の化合物の量は、選択された特定の化合物だけでなく、投与方法、治療される症状の状態、患者の年令、症状に応じて変動し、そして結局、付添いの医者および獣医の判断に一任されることを理解されよう。しかしながら、一般に、好適な投与量は、1日あたり約1～約750mg/kgの範囲内にあり、例えば、1日あたり、レシピエントの体重1kgにつき3～約120mgのように、1日あたり約10～約750mg/kg体重であり、好ましくは、6～90mg/kg/日の、最も好ましくは、15～60mg/kg/日の範囲内の量の、配合剤の各々の活性成分である。

望ましい投与量は、好都合には、单一の投与量で、または適当な間隔をおいて、例えば、1

の抗ウイルス性化合物と、AZT、リバビリン、d4TおよびCS-87から選択された第2の抗ウイルス剤を同時に投与することから成る、ヒトを含む哺乳動物におけるウイルス感染症の治療法が提供される。1種以上の式(I)の化合物と、第2の抗ウイルス剤の1種以上と組み合わせて、一緒に、または一対になった組み合わせを多數回投与することから成る治療法もまた、本発明の範囲内に含まれる。

式(I)の化合物および第2の抗ウイルス剤は、同時に統一して、または、組み合わせて投与することができる事が理解されよう。もし、投与が連続的になされるならば、第2の活性成分を投与する時の遅れる時間は、利点である、組み合わせの共作用的効果を失なうものであってはならない。好ましくは、投与は同時にするのが良い。

本明細書で、治療について言及された場合、

日あたり2、3、4またはそれ以上の回数のサブ投与量で投与される分割された投与量であり得る。

配合剤は、好都合には、単位投与形態で投与され、例えば、単位投与形態物あたり、10～1500mg、好都合には20～1000mg、最も好都合には、50～700mgの各活性成分を含有する。

理想的には、配合剤は、各々の活性化合物の約1～約75μM、好ましくは約2～50μM、最も好ましくは約3～約30μMの血しょう濃度が達成されるように投与されるべきである。

このことは、例えば、場合によっては皮水中の活性成分の0.1～5%溶液の静脈注射によって、または、約1～約100mg/kgの各活性成分を含有する巨丸剤として投与することにより達成される。所望の血中レベルは、約0.01～約5.0mg/kg/時の活性成分を供給する連続注入、または、約0.4～約15mg/kgの活性成分を含有

する断続的な注入により維持され得る。

治療用として配合剤の活性成分は、純粋な化学薬品として投与することが可能であるが、好ましくは、本発明の配合剤は医薬製剤として存在する。

従って、さらに本発明は、式(I)の化合物またはその薬学的に許容され得る崩壊体およびAZT、リバビリン、d4T、そしてCS-87から選ばれた第二の抗ウイルス性化合物を、1個またはそれ以上の、そのための薬学的に許容され得る担体、および場合によっては、他の治療および/または予防成分とともに含有する医薬製剤を提供するものである。担体(複数可)は、製剤の他の成分と同様に融和性があり、そしてそのレシピエントに有害でないという意味で「許容され得るもの」でなければならない。

医薬製剤は、経口的、直腸的、鼻的、局所的(口腔内および舌下を含む)、腹的もしくは、

剤または温潤剤を含有してもよい。錠剤は、当該技術分野において良く知られている方法によってコーティングされる。経口液体製剤は、例えば、水性または油性の懸濁剤、溶剤、乳剤、シロップ剤またはエリキシル剤の形態で、または使用前に、水または他の適当なビヒクルと配合される乾燥薬品として存在し得る。かかる液体製剤は、慣用の添加剤、例えば、懸濁化剤、乳化剤、非水性のビヒクル(食用油を含んでもよい)、または保存料を含んでもよい。

本発明の化合物は、また非経口的投与(例えば、巨丸剤注射または連続的注入のような注射剤による)用に製剤化され、そしてアンプル、プレ充てん注射器、小容量注入器中の単位投与形態で、または保存料を加えて数多用量の容器中に存在し得る。該組成物は、油性または水性のビヒクル中、懸濁剤、溶剤または乳剤のような形態をとり、そして懸濁化剤、安定化剤およ

び経口的(筋肉内、皮下および静脈内を含む)な投与に適したもの、または吸込もしくは吹入による投与に適した形態のものを包含する。好適には、製剤は、別個の投与単位で好都合に存在し、そして、薬剤学の分野において良く知られている方法によって製造できる。すべての方法は、活性化合物を、液体担体または微粉状の固体担体または両方と会合させ、次いで、必要ならばその生成物を所望とする製剤に形づくる工程を包含する。

経口投与に適した医薬製剤は、好都合には、所定の量の活性成分をそれぞれ含有するカプセル剤、カシュー剤、錠剤；粉剤または顆粒剤；溶剤、懸濁剤または乳濁剤のような別個の単位として存在し得る。活性成分はまた、巨丸剤、し剤またはペースト剤として存在し得る。経口投与用の錠剤およびカプセル剤は、慣用の賦形剤、例えば、結合剤、充てん剤、潤滑剤、崩壊

剤または分散剤のような処方化剤を含有してもよい。一方、活性成分は、滅菌固体の無菌的単離または帯液からの凍結乾燥によって得られる、使用する前に適当なビヒクル、例えば、滅菌の発熱性でない水と配合される、粉末形態であってもよい。

表皮への局所的投与のために、本発明の化合物は、軟膏剤、クリーム剤またはローション剤として、または経皮用パッチとして製剤化され得る。軟膏剤およびクリーム剤は、例えば、適当な浸潤化剤および/またはゲル化剤を加えて、水性または油性の基剤を用いて製剤化される。ローション剤は、水性または油性の基剤を用いて製剤化され、そして一般にさらに、1つまたはそれ以上の乳化剤、安定化剤、分散剤、懸濁化剤、浸潤化剤または着色剤を含有する。

口中における局所的投与に適した製剤は、フレーバー基剤、通常はスクロースおよびアラビ

アゴムまたはトラガカントゴム中に、活性成分を含有するトローチ剂；ゼラチンおよびグリセリンまたはスクロースおよびアラビアゴムのような不活性基剤中に活性成分を含有するバステル剤；適当な液体担体中に活性成分を含有する口内洗剤を包含する。

担体が固体である、直腸的投与に適した医薬製剤は、最も好ましくは、単位投与剤である。好適な担体としては、カカオ脂および当該技術分野において通常用いられる他の物質が挙げられ、そして坐剤は好都合には、活性化合物を軟化されたまたは融解された担体（複数可）と混合し、次いで冷却し、錠型中で成形することにより製剤化される。

腹的投与に適した製剤は、活性成分の他に、当該技術分野において知られているような適当な担体を含有する、ペッサリー、タンポン、クリーム剤、ゲル剤、ベースト剤、泡剤またはス

プレー剤として存在し得る。

鼻腔内投与用として、本発明の化合物は、液体スプレー剤または分散性粉末としてまたは滴剤の形態で使用される。

滴剤は、1つまたはそれ以上の分散剤、可溶化剤または懸濁化剤をさらに含有する、水性または非水性の基剤を用いて製剤化される。液体スプレー剤は、好都合には加圧されたパックから噴出される。

吸入投与用として、本発明の化合物は、好都合には、吹入器、ネブライザーまたは加圧されたパックまたはエアゾルスプレー剤を噴出させるのに好都合な、他の手段を用いて噴出される。加圧されたパックは、適当な噴射剤、例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他の適当な気体を含有してもよい。加圧エアゾル剤の場合、投与単位は計量された

量を噴出するバルブを付与することにより決定される。

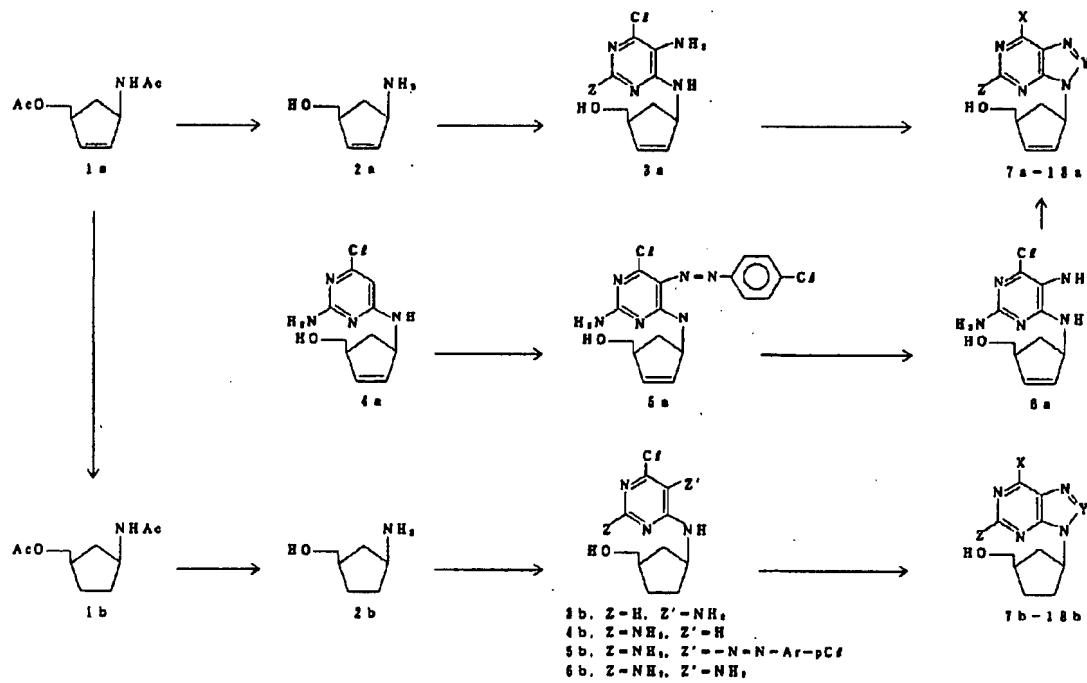
一方、吸入または吹入による投与については、本発明の化合物は、乾燥粉末組成物、例えば、該化合物およびラクトースまたは穀粉のような適当な粉末基剤の混合粉末の形態をとってもよい。粉末組成物は、粉末が吸入器または吹入器を用いて投与されるような、例えばカプセルもしくはカートリッジ、または例えばゼラチンもしくはプリスターパック中の単位投与形態で存在してもよい。

所望ならば、活性成分の持効性を与えるよう上記の製剤が用いられる。

本発明の医薬組成物はさらに、抗菌剤のような他の活性成分または保存料を含有してもよい。

次の合成スキームは出発物質1aからの式(I)の好ましい化合物の合成を表わしている。

合 成 又 半 一 ム



構造式および化合物 7a~18a の幾つかの特性を以下の表 I に示す。

卷一

A. 式Iの2',3'-ジテオキシ-6-置換-プリン (2-R)

化合物番号	X	融点(°C)	RI	收率(%)
7a	Cl	108-110	0.35 ^a	82
8a	OH	248-250(dec)	0.24 ^b	45
9a	NH ₂	198-200	0.33 ^a	81
10a	SH	263-265(dec)	0.44 ^b	49

B. 式 I の 2',3'-ジデオキシ-2,6-ジ置換-ブリン (Z=NH₂)

化合物番号	X	融点(°C)	Rf ^b	收率(%)
13a	Cl	145-147	0.64	80
14a	OH	254-256(dec)	0.27	61
15a	NH ₂	152-155	0.41	80

• CHCl₃ : MeOH, 10 : 1

CHCl₃ : MeOH, 5 : 1

化合物 7a、8a、9a、10a、13a、14a および 15a

は、HIVによる感染およびヒトリンパ球（Tn細胞）の致死を抑制するのに効果的である。そのため、AZTおよび／またはリバビリンと組み合わせて、これらの化合物は、HIVに感染したおよび／またはAIDSまたはAIDS-関連合併症（ARC）にかかっている患者における臨床実験の候補となる。

リバピリン

リバビリン（1-β-D-リボフラノシリ-1H-1,2,4-トリアゾール-3-カルボキサミド）は、最初に合成された非インターフエロソルブトロールの抗ウイルス性スケレオシドである。その合成および活性性は広く報告してきた。例えば、Y.Itoらの Tetrahedron Letters, 2521(1979年) および R.R.Schmidt らの Ber., 114, 2825(1981年) そして Chem. Eng. News, 28(1986年1月27日) を参照されたい。リバビリンは、ICN Pharmaceuticals (Covina, CA)

社から、ピラゾールとして商業的に入手できる。

3'-アジド-3'-デオキシチミジン (AZT)

AZTは現在Burroughs Wellcome (Research Triangle Park, NC)社から入手でき、AIDS、ARCの治療のために、そして症状のないHIV血清陽性固体における予防的な研究のために認可されている。

3'-アジド-2',3'-ジデオキシウリジン (AzddUrd; CS-87) は、インビトロでHIV応答を有意に抑制することが報告されている。例えば、Chuらの *Biochem.Pharmacol.* 37, 3543(1988年); Linらの *J.Med.Chem.* 31, 336(1988年); そしてBalzariniらの *Biochem.Pharmacol.* 37, 2847(1988年)を参照されたい。AzddUrdは、Dr. Raymond F. Schinazi(Atlanta, GA)社から入手したが、現在Triton Biosciences(Alameda, CA)社により、抗HIV剤として生産され、開発されて

ther Research Institute, Birmingham, AL)から得たが、現在はBristol-Myers Research Laboratories(Wallingford, CT)により抗HIV剤として生産され、開発されている。

式Iの化合物

用途の広いプレカーサーである、1-アセチルアミノ-3-アセトキシメチルシクロペント-2-エン (1a) からの、式7a~18aのヒドロキシメチルシクロベンテンテニル化合物および式7b~18bのヒドロキシメチルシクロベンチル化合物の合成は、前記合成スキームに示したように達成された。化合物1aは、米国特許第4,138,562号に記載のように製造され、その開示を引用例として本明細書に取り入れる。化合物2aは、例えば、アルカリ土類金属の水酸化物のような強やかな塩基の存在下、加水分解により化合物1aから製造した。ビリミジン化合物3aを得るために、化合物2aをアルコール性溶媒中、

いる。

2',3'-ジデオキシ-2',3'-ジデヒドロチミジン (ddThd; d4T) は、インビトロでHIV応答の強力な抑制剤であると報告されている。例えば、Babaらの *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 142, 128(1987年); Linらの *Biochem.Pharmacol.* 36, 2713(1987年); そしてHamamotoらの *Antimicrob.Agents Chemother.* 31, 907(1987年)を参照されたい。d4TはGlaxo Laboratories (Research Triangle Park, NC)より提供された。この化合物は、現在Bristol-Myers Research Laboratories(Wallingford, CT)により、抗HIV剤として生産され、開発されている。

2',3'-ジデオキシイノシン (ddI) は、MitsuyaおよびBroderの *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* 83, 1911(1986年)により、インビトロでHIVにより誘発された細胞変性効果を抑制することが最初に報告された。ddIは、Dr. Jack Sechrist (Sou-

例えば、トリアルキルアミンのようなアミン塩基の存在下、過剰の5-アミノ-4,6-ジクロロビリミジンと反応させた。同様に、化合物1aを水素添加することにより得られるシクロペントキニル化合物1bを加水分解し、5-アミノ-4,6-ジクロロビリミジンと反応させて、ビリミジニルシクロベンチルカルボノール3bを得る。さらに、2-アミノ-4,6-ジクロロビリミジンを化合物2aと反応させると、化合物4aが得られ、そして、化合物2bと反応させると化合物4bが得られる。

P-クロロアニリンを酸性亜硝酸ナトリウムでジアゾ化し、そして化合物4aおよび4bと反応させて、クロロフェニルアゾ中間体5aおよび5bをそれぞれ得た。アゾ中間体5aおよび5bを還元してそれぞれ6aおよび6bを得ることは、亜鉛と酢酸を用いて達成された。ShealyおよびClaytonの *J.Pharm.Sci.* 62, 1433(1973年)を参照さ

れたい。

5-アミノ-6-クロロ-4-ピリミジニル中間体3aおよび3bは、トリエチルオルトホルメートを用いて閉環し、次いで穎やかに酸加水分解して、反応中に生成したエトキシメチリデンおよびホルメートを除去することにより、それぞれ9-置換-6-クロロブリン7aおよび7bに変換された。同様にして、2,5-ジアミノ-6-クロロ-4-ピリミジニル中間体6aおよび6bを開環して、その相当する2-アミノ-6-クロロ-9H-ブリン-9-イル化合物13aおよび13bとした。

6-クロロブリン7a、7b、13aおよび13bを、水性塩基を用いて、すなわち、NaOHのようなアルカリ金属水酸化物を用いて、それらを還流することにより、それぞれ、その相当する6-ヒドロキシブリン8a、8b、14aおよび14bに変換した。クロロ化合物7a、7b、13a、13b、18aおよ

び18bは、圧力下、液体アンモニアと反応させることにより、その相当するアミノ化合物9a、9b、15a、15b、18aおよび18bに変換された。

式I (式中、XはNR₂であり、Rは低級アルキル、フェニルまたはHとその混合物である)の、モノまたはジ置換の6-アミノ化合物は、ハライドの第2または第3アミンへの変換のための慣用方法を用いて製造できる。例えば、I.T.Harrisonらの *Compendium of Organic Synthetic Methods*, p250~252, Wiley-Interscience, NY(1971年)を参照されたい。化合物7a、7b、13a、13b、18aおよび18bにおける6-クロロ置換基は、4a~5aまたは4b~5bの変換における各種のP-(ハロ)ベンゼンジアゾニウムクロライドを使用することにより、またはハライド-ハライド交換の慣用方法を用いることにより、他のハログン原子と置き換えることができる。

これらの変換は、R.T.Walkerらの *Nucleoside Analogs-Chemistry, Biology and Medical Applications*, p193~223 (Plenum Press, NY (1979年))における、ブリンスクレオシド合成の欄で詳細に記載されており、その開示を本明細書に引用例として取り入れる。

7aおよび7bを還流アルコール中、チオ尿素を用いて処理し、次いでアルカリ性加水分解に付して、それぞれ、チオール10aおよび10bを得た。L.F.Fieserらの *Reagents for Organic Synthesis*, p1165~1167 (John Wiley and Sons社NY (1967年))および米国特許第4,383,114号を参照されたい。その開示を本明細書に引用例として取り入れる。フェニルまたはアルキルチオ誘導体は、その相当するチオールから米国特許第4,383,114号(実施例6)記載の方法により製造することができる。

3aおよび3bを酸性の亜硝酸ナトリウム水溶液

を用いて閉環し、次いで水性の塩基を用いて中和することにより、直接それぞれその相当する7-ヒドロキシ-3H-1,2,3-トリアゾ[4,5d]ピリミジン-3-イル化合物11aおよび11bが得られた。

8aおよび8bを開環して、それぞれその相当する5-アミノ-7-クロロ-3H-1,2,3-トリアゾ[4,5d]ピリミジン-3-イル化合物16aおよび16bを得、次いでそれを水性NaOHを用いて加水分解して、その相当する7-ヒドロキシ化合物17aおよび17bを得る。化合物3aは、酸性亜硝酸ナトリウムと反応させ、次いでその粗生成物を液体アンモニアと反応させることにより、その相当する7-アミノ化合物12aに変換された。7-アミノシクロベンチルカルビノール12bは、12aを水素添加 (Pd-C) することにより製造された。ZがOHであり、XがNH₂またはOHであり、そしてYがCHである式Iの化合物

は、Davollによる2-アミノアデノシンからイソグアノシンに変換するために使用された方法を用いて、亜硝酸で2-アミノ基を脱アミノ化することにより、化合物14a、14b、15aまたは15bから製造することができる。J. DavollのJ. Amer. Chem. Soc., 73, 3174(1951年)を参照されたい。その開示は引用例として本明細書に取り入れる。

XがHであり、ZがNH₂でありそしてYがCHである式Iの化合物は、化合物7a、7b、13aまたは13bから亜鉛／水を用いて脱ハロゲン化[J. R. MarshallらのJ. Chem. Soc., 1004(1951年)]することにより、またはV. NairらのJ. Org. Chem., 52, 1344(1987年)に記載の方法により、Rayonet光化学反応器(2537Å)中で、10%トリエチルアミンを含有する乾燥空素-バージングされたテトラヒドロフラン中光分解することにより、製造することができる。

薄層クロマトグラフィー(TLC)は、メルク社のシリカゲル(230~400メッシュ)の、0.25mmの層を用いて行なった。すべての化学薬品および溶媒は、特に断りがない限り試薬級である。

化合物7~18並びにAZT、リバビリン、CS-87およびd4Tの薬理学的に許容しうる融の値は、米国特許第4,383,114号に記載のようにして製造することができ、その開示は引用例として本明細書に取り入れる。

本発明を、下記の詳細な実施例を用いてさらに詳しく説明する。ここで、元素分析はM-H-Wラボラトリ、Phoenix、AZによって行なわれた。融点はMel-Temp装置を用いて測定し、補正した。核磁気共鳴スペクトルは、Jeol FX 90QFTまたはNicollet NT300分光計を用いて、DMSO-D₆中で測定した。化学シフトはMe, Siから低磁場におけるppmで表現した。IRスペクトルは、Nicollet 50XC FT-IR分光計を用いて、KBr盤として測定し、そしてUVスペクトルは、Bekkman DU-8分光光度計を用いて測定した。マススペクトルは、AEI Scientific Apparatus Limited MS-30質量分析計を用いて測定した。

実施例 1

(±)-(1a, 4a)-4-[(5-アミノ-6-クロロ-4-ピリミジニル)-アミノ]-2-シクロペンテニルカルビノール(3a)

1a(3.0g、15mmol)および水酸化バリウム水溶液(0.5N、300mL)の混合物を一晩還流した。冷却後、それをドライアイスで中和化した。沈殿物をろ去し、水溶液を濃縮して乾固した。残留物を無水エタノールで抽出し、再び濃縮して無色のシロップとして、2a(1.6g、14mmol)を得た。

このシロップに、5-アミノ-4,6-ジクロロピリミジン(4.59g、28mmol)、トリエチルアミン(4.2g、42mmol)およびn-ブタノール(50mL)を加え、混合物を24時間還流した。揮発性の溶媒を除去し、残留物をフラッショナル(4.0×12cm)中に充てんされたシリカゲル(7g)に吸収し、CHCl₃-MeOH(20:1)で溶離して、

化合物3a(2.69g, 74%)を得た。融点130~132℃。

分析用の試料は、酢酸エチル(EtOAc)から再結晶することにより得られた。融点134~135℃。MS (30 ev, 200℃); m/e 240および242(M⁺2)、209 (M⁺-31)、144 (B⁺); IR: 3600~2600 (OH)、1620、1580 (C=C, C=N)、元素分析: (C₁₁H₁₂C₆N₂O) C, H, N.

実施例 2

(±)-(1a,4a)-4-[(2-アミノ-6-クロロ-4-ピリミジニル)-アミノ]-2-シクロペンテニルカルビノール (4a)

14mmolの粗製2aに、2-アミノ-4,6-ジクロロピリミジン (3.74g, 22.8mmol)、トリエチルアミン (15mL) およびn-ブタノール (75mL) を加え、混合物を48時間還流した。揮発性溶媒を除去し、残留物をメタノールで処理して、未溶解の副生成物 (ダブルピリミジンスクレオシ

酢酸 (50mL)、水 (50mL) および酢酸ナトリウム三水和物 (20g) の混合物に加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌した。黄色の沈殿物をろ過し、中和するまで冷水で洗浄し、次いで、ドライフーチャンバーで空気乾燥して、5a (3.60g, 94%)を得た。融点229℃ (分解)

分析用試料は、アセトニーメタノール (1:2) から得られた。融点241~243℃ (分解)。MS (30 ev, 260℃); m/e 378および380 (M⁺およびM⁺+2)、282 (B⁺); IR: 3600~3000 (NH₂, OH)、1620、1580 (C=C, C=N); 元素分析: (C₁₁H₁₂C₆N₂O) C, H, N.

実施例 4

(±)-(1a,4a)-4-[(2,5-ジアミノ-6-クロロ-4-ピリミジニル)-アミノ]-2-シクロペンテニルカルビノール (6a)

5a (379mg, 1mmol)、亜鉛末 (0.65g, 10mmol)、酢酸 (0.32mL)、水 (15mL) およびエタノール

4) を分離した。メタノール溶液を、カラム (4.0×14cm) 中に充てんされたシリカゲル (8g) に吸収し、CHCl₃-MeOH (40:1) で溶離して、粗製4a (1.52g, 42%)を得た。生成物を酢酸エチルから再結晶して4aを得た。融点132~134℃。MS (30 ev, 200℃); m/e 240および242 (M⁺およびM⁺+2)、209 (M⁺-31)、144 (B⁺); IR: 3600~3000 (NH₂, OH)、1620、1580 (C=C, C=N)、元素分析: (C₁₁H₁₂C₆N₂O) C, H, N.

実施例 3

(±)-(1a,4a)-4-[(2-アミノ-6-クロロ-5-(4-クロロフェニル)-アミノ)-2-シクロペンテニルカルビノール (5a)

ジアゾニウム塩溶液を、3N HCl (25mL) 中のp-クロロアニリン (1.47g, 11.5mmol) および水 (10mL) 中の硝酸ナトリウム (870mg, 12.5mmol) から調製した。この溶液を、4a (2.40g, 10mmol)、

(15mL) の混合物を窒素下3時間還流した。亜鉛を除去し、溶媒を蒸発させた。残留物をカラム (2.0×18cm) 中に充てんされたシリカゲル (12g) に吸収し、CHCl₃-MeOH (15:1) で溶離した。ピンク色のシロップが得られた。さらにメタノール-エーテルから粗製して、ピンク色の結晶として6a (170mg, 88%)を得た。融点168~170℃。MS (30 ev, 220℃); m/e 255および257 (M⁺およびM⁺+2)、224 (M⁺-31)、159 (B⁺); IR: 3600~3000 (NH₂, OH)、1620、1580 (C=C, C=N); 元素分析: (C₁₁H₁₂C₆N₂O) C, H, N.

実施例 5

(±)-(1a,4a)-4-[(6-クロロ-9H-ブリジン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール (7a)

3a (1.30g, 5.4mmol)、オルトギ酸トリエチル (30mL) および塩酸 (12N, 0.50mL) の混合物を室温で一晩攪拌した。溶媒を真空下35℃で蒸発さ

せた。残留物に、塩酸水溶液(0.5N、30mL)を加え、混合物を1時間搅拌した。混合物を1N水酸化ナトリウムを用いて、pH7~8に中和して、カラム(4.0×8cm)中に充てんされたシリカゲル(8g)に吸収し、CHCl₃-MeOH(20:1)で溶離して、白色の結晶の7a(1.12g、82%)を得た。粗製生成物を酢酸エチルから再結晶して、7aを得た。融点108~110°C。MS(30ev. 220°C): m/e 250および252(M⁺およびM⁺+2)、219(M⁺-31)、154(B⁺)；IR: 3600~2800(OH)、1600(C=C, C=N)；元素分析: (C₁₁H₁₂N₂O₂) C, H, N.

実施例 6

(±)-(1a, 4a)-4-(6-ヒドロキシ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール(8a)

7a(251mg, 1mmol)および水酸化ナトリウム水溶液(0.2N、10mL)の混合物を3時間還流した。冷却後、反応混合物を酢酸を用いてpH5~6に

ることにより、オフホワイトの結晶として9a(187mg、81%)を得た。融点198~200°C。MS(30ev. 210°C): m/e 231(M⁺)、213(M⁺-18)、135(B⁺)；IR: 3600~2600(NH₂, OH)、1700, 1600(C=C, C=N)；元素分析: (C₁₁H₁₂N₂O₂) C, H, N.

実施例 8

(±)-(1a, 4a)-4-(6-メルカブト-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール(10a)

7a(125mg、0.5mmol)、チオ尿素(40mg、0.64mmol)およびn-ブロバノール(5mL)の混合物を2時間還流した。冷却後、沈殿物をろ過により単離し、n-ブロバノールで洗浄し、そして水酸化ナトリウム(1N、5mL)中に溶解した。溶液を酢酸を用いてpH5に調整した。粗製の10a(90mg、73%)、融点260~262°C(分解)を再び単離して、N,N-ジメチルホルムアミドから再結晶して10a、融点263~265°C(分解)を得

調整した。反応混合物をカラム(2.0×11cm)中に充てんされたシリカゲル(2g)に吸収し、そして、CHCl₃-MeOH(10:1)で溶離して、8a(105mg、45%)を得た。粗製の白色生成物を水-メタノール(3:1)から再結晶して、8aを得た。融点248~250°C(分解)。MS(30ev. 300°C): m/e 232(M⁺)、214(M⁺-18)、136(B⁺)；IR: 3600~2600(OH)、1680, 1600(C=C, C=N)；元素分析: (C₁₁H₁₂N₂O₂) C, H, N.

実施例 7

(±)-(1a, 4a)-4-(6-アミノ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール(9a)

液体アンモニアを-80°Cで、メタノール(5mL)中、7a(250mg, 1mmol)の溶液を含有するポンベ中に流し込んだ。ポンベを密閉し、そして24時間60°Cで加熱した。アンモニアおよびメタノールを蒸発させ、残留物を水から再結晶す

た。MS(30ev. 290°C): m/e 248(M⁺)、230(M⁺-18)、152(B⁺)；IR: 3600~3200(OH)、3100, 2400(SH)、1600(C=C, C=N)；元素分析: (C₁₁H₁₂N₂O₂) C, H, N.

実施例 9

(±)-(1a, 4a)-4-(2-アミノ-6-クロロ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール(13a)

8a(1.41mg, 5.5mmol)、オルトギ酸トリエチル(30mL)および塩酸(12N, 1.4mL)の混合物を一晩搅拌した。懸濁液を真空下乾燥した。希塩酸(0.5N, 40mL)を加え、混合物を室温で1時間反応させた。混合物を1N水酸化ナトリウムを用いてpH8に中和化し、カラム(4.0×10cm)中に充てんされたシリカゲル(7.5g)に吸収し、CHCl₃-MeOH(20:1)で溶離して、オフホワイトの結晶として13a(1.18g、80%)を得た。粗製の生成物をエタノールから再結晶して13aを得

た。融点145~147°C。MS (30 ev, 220°C) : m/e 265および267 (N⁺およびN⁺+2)、235 (N⁺-30)、169 (B⁺)；IR: 3600~2600 (NH₂, OH), 1620~1580 (C=C, C=N)；元素分析: (C₁₁H₁₂N₂O₂) 3/4 (C, H, N)。

実施例 10

(±)-(1a, 4a)-4-(2-アミノ-6-ヒドロキシ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール (14a)

13a (266mg, 1mmol) および水酸化ナトリウム水溶液 (0.33N) の混合物を 5 時間還流し、カラム (2.0×7.5cm) 中に充てんされたシリカゲル (2g) に吸収し、CHCl₃-MeOH (5:1) で溶離した。粗製の生成物を、メタノール-水 (1:4) から再結晶して白色の結晶として 14a (152mg, 61%) を得た。融点254~256°C (分解)。MS (30 ev, 200°C) : m/e 247 (M⁺)、217 (M⁺-30)、151 (B⁺)；IR: 3600~2600 (NH₂, OH), 1700~1600 (C=O, C-C, C=N)；元素分析:

(C₁₁H₁₂N₂O) C, H, N.

実施例 12

(1a, 4a)-4-(2-アミノ-6-ヒドロキシ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルアセトキシカルビノール

アセトニトリル (8ml) およびトリエチルアミン (0.09ml, 0.66mmol) の混合物中の 14a (130mg, 0.50mmol) および 4-ジメチルアミノピリジン (5mg, 0.04mmol) の懸濁液に酢酸無水物 (0.06ml, 0.6mmol) を加えた。混合物を室温で 3 時間攪拌した。メタノール (1ml) を反応を冷却するために加えた。溶液を濃縮し、カラム (2.0×12cm) 中に充てんされたシリカゲル (1.5g) に吸収し、CHCl₃-MeOH (20:1) で溶離した。生成物の画分を集め、濃縮して白色の固体を得た。固体の生成物を MeOH-AcOEt で洗浄して、123mg の精製されたアセトキシカルビノールを得た (85%)。メタノールからさらに精

(C=O, C=C, C=N)；元素分析: (C₁₁H₁₂N₂O₂) 3/4 (C, H, N)。

実施例 11

(±)-(1a, 4a)-4-(2,6-ジアミノ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール (15a)

液体アンモニアを、ポンベ中 -80°C で、メタノール (10ml) 中、13a (285mg, 1mmol) の溶液中に流し込んだ。ポンベを密閉し、48 時間、75°C で加熱した。アンモニアおよびメタノールを蒸発させた。残留物を、カラム (2.0×10cm) 中に充てんされたシリカゲル (2g) に吸収し、CHCl₃-MeOH (15:1) で溶離した。粗製の生成物をエタノールから再結晶して、15a (196mg, 80%) を得た。融点152~155°C。MS (30 ev, 200°C) : m/e 248 (M⁺) 229 (M⁺-17)、216 (M⁺-30)、150 (B⁺)；IR: 3600~3000 (NH₂, OH), 1700, 1650, 1600 (C=O, C-C, C=N)；元素分析:

(C₁₁H₁₂N₄O₂) C, H, N.

実施例 13

(1S,4R)-4-(2-アミノ-6-ヒドロキシ-9H-ブリン-9-イル)-2-シクロペンテニルカルビノール ((-)-14a)

ジアミノ類似体 15a (100mg) を、3ml の 0.05M K₂PO₄ 濃衝液 (pH 7.4) 中に 50°C で溶離した。この溶液を 25°C まで冷却し、40 ユニットのアデノシンデアミナーゼ (シグマ、VI 型子牛の腸粘膜) を加えた。室温でのインキュベーションの 3 日後、沈殿物が形成し、ろ過により除去して 18.2 mg の粗生成物を得た。ろ過を濃縮して 1.5ml とし、そして 2 日間冷蔵した。ろ過によりさらに固体が得られた。収量 26.8mg 2 つの固体画分を水から再結晶して純粋な生成物を得た。融点 269~274°C, (α)_D²⁵ = -82.1 (c 0.3 MeOH)。

実施例 14

(IR,4S)-4-(2-アミノ-6-ヒドロキシ-9H-プリン-9-イル)-2-シクロベンテンニルカルビノール ((+)-14a)

15,4R-異性体の製造で得られた溶液を合し、そして蒸発させて乾固した。未反応のジアミノ出発原料を、10%メタノール/クロロホルムを用いるシリカゲルフラッシュカラムで分離した。ジアミノ化合物を、0.05M K₂PO₄緩衝液(pH7.4、15mL)中に溶解し、そして800ユニットのアデノシンデアミナーゼを加えた。溶液を37℃で96時間インキュベトした。TLCより、幾つかの未反応の生成物が残留していることが確認された。溶液を沸騰水中3分間の加熱をし、そしてろ過して、変性タンパク質を取り除いた。さらに800ユニットのアデノシンデアミナーゼを加え、工程を繰り返した。タンパク質の取り除かれた溶液を蒸発させて乾固し、そして生成物を水から結晶させて白色の固体を得た。融

実施例 16

抗-HIVアツセイ

化合物14aを抗-HIV活性に関してNational Cancer Institute, Frederick Cancer Research Facility, Frederick, Maryland (FCRF)でスクリーニングした。FCRFで利用したスクリーニングモード操作法は、1988年1月20日出願の米国特許出願番号第07/146,252号に詳細に記載されており、その開示は本明細書に引用例として取り入れる。

第1図は、化合物14aの増大する濃度の関数として、感染および未感染細胞の両方について、未感染細胞に対する試験細胞のパーセンテージ(%)のプロットを表わす。

第1図にプロットされたデータより、感染細胞に関しての有効濃度(EC₅₀)約0.15μg/mL、正常細胞に関しての抑制濃度(IC₅₀)約100μg/mLそして治療係数(TI₅₀)約667が計算される。

点265~270°。[α]_D²⁵ + 61.1(c 0.3 MeOH)。

実施例 15

細胞毒アツセイ

P-388マウス白血病細胞培養アツセイにおける類似体7a、9a、10a、16aおよび17aについて測定されたED₅₀細胞毒濃度を表Ⅱに示す。

表Ⅱ 培養中のP-388白血病細胞に対する炭素環式ヌクレオシドの抑制濃度

化合物	ED ₅₀ , μg/mL
7a	12.0
9a	40.0
10a	3.0
16a	1.0
17a	4.5

*アツセイ法: R.G. AlmquistおよびR. Vince, J. Med. Chem., 16, 1396 (1973)。

従って、表Ⅱに記載されるすべての化合物は、P-388マウス白血病に対して活性である。

Southern Research Instituteで行なわれた初期のアツセイでは、MT-2細胞がH9/HTLV-III Bとともに培養された場合、TI₅₀が約200であった。

化合物7a、9a、10a、13a、14a、(-)-14aおよび15aのHTLVに対する活性を下記の表Ⅲに示す。

表Ⅲ

化合物	ED ₅₀	ID ₅₀	ID ₅₀	細胞系
7a	—	58.5	—	MT-2
9a	2.3	50	21.4	MT-2
10a	—	7.33	—	MT-2
13a	0.41	6.97	17.3	MT-2
(+)-14a	0.15	100	667	MT-2
(+)-14a	0.009	3.79	404	MT-2
(+)-14a	0.35	39.9	112	MT-2
(+)-14a	0.20	55.3	272	ATH-8
(-)-14a	1.95	> 250	> 128	CEM-C
(-)-14a	0.325	135	416	MT-2C
(-)-14a	0.665	189	284	CEM-C
15a	1.9	> 125	66	MT-2C
15a	2.92	> 125	42.7	MT-2C

化合物14aもまたネコ白血病ウイルス(ED₅₀ = 1.9; FAIDS実株)；ネズミ白血病ウイルス(ED₅₀ = 1.1; Cas-BR-N型)およびサルAIDSウイルス(ED₅₀ = 2.8; D/ワシントン型)に対して活性であることがわかった。

実施例 17

化合物14aと3'-アジド-3'-デオキシチミジン(AZT)、ddI、リバビリン、CS-87またはd4Tとの抗ウイルス共作用

1. 序論

14aとAZT、リバビリン、ddI、CS-87およびd4Tとの組み合わせられた抗ウイルス効果を測定するために用いる方法および操作法をここで2部にわけて提示する。最初の部は、抗ウイルスアッセイを達成するための方法を構成し、第2部は2つの化合物を組み合わせたアッセイを達成するための方法を記載する。最初の部についてのプロトコルは、下記の“大きいスケール

ーロイキン-2(IL-2)(ATH8細胞のための)、および抗生物質含有)中、ウイルスを加えて、MOI約0.01とする。0.01のMOIは、10³感染性ユニットのウイルスを10⁴細胞に加えることにより得られる。ウイルスを含有しないコントロール細胞には培地のみを加える。処理した、またはコントロールの細胞を、空気-5%CO₂中、37°Cで1時間インキュベートする。感染した、または未感染の細胞を希釈して1×10⁴細胞/100μl(ATH8細胞では2×10⁴細胞/100μl)とする。感染した、または未感染の細胞(100μl)を96-ウエルのU字底マイクロタイターブレートの適当なウエル中に配分する。各化合物の希釈物を、感染細胞を用いて2回テストする。未感染細胞は1個のウエルで化合物の各希釈物に關し、薬剤感受性に關して検査する。薬剤を含有しない感染および未感染のコントロール細胞はそれぞれウエルB3-D3およびE3-G3中で、3

でのスクリーニング操作法：ブレ感染プロトコル”に提示される。第2部は下記の“組み合わされた薬剤アッセイ”に記載される。

2. 大きいスケールでのHIVスクリーニング操作法：ブレ感染プロトコル

下記に示すものが、Southern Research Institute(Birmingham, AL)で用いられる現在のスクリーニングモード操作法である。この方法は3つの操作、すなわち1)感染した細胞の調製およびテストブレートへの配分、2)薬剤希釈ブレートの調製およびテストブレートへの配分、そして3)XTTアッセイ操作から成る。

A. 細胞の感染およびマイクロタイタートレーへの配分

細胞を円錐形の50mlの遠心分離管に入れ、そして37°Cでポリブレン1~2μg/mlで30分間処理し、次にペレット化する(8分間、1200RPM)。(RMPI-1640、10%ウシ胎児血清(FCS)、インタ

回操作する。ウエルA4~A11およびB4~B11は、試薬ブランクであり、この時点では培地のみが加えられる。ブレートは、薬剤が添加されるまで、5%CO₂中37°Cでインキュベートする。

B. 薬剤の希釈および添加

各薬剤の最初の希釈は、下記に示す希釈法に従って、試験管中で行なう。残りの希釈は、96-ウエルブレート中で行なう。各ブレートのすべてのウエルを、ブレート充てんワークシートに従ってプログラムされたCetus液体取り扱いシステムを用いて培地225μlで充たす。2つの希釈された化合物25μlを、薬剤がテストブレート上に現われるのと同様の順序で、充てんされた希釈ブレートの11列に手で加える。2つの化合物を次いで連續希釈ファイルワークシートでプログラムされたCetus液体取り扱いシステムを用いて、11列から4列まで、連続的に10倍に希釈する。

6マイクロチップを有するマルチチャンネルピベッターを用いて、各薬剤希釈物 $100\mu\text{l}$ をテストプレートに移す；すなわち、希釈プレートのウェルA4からH4までの $100\mu\text{l}$ をテストプレートの同じウェルに移す。ウェルB3からG3まで、およびB2からG2までは、培地のみが加えられる。このテストプレートは、空気-5%CO₂中、37°Cで7日間インキュベートするか、または顕微鏡で判断して、ウイルスコントロール細胞が被覆されるまでインキュベートする。

C. ミクロ培養テトラゾリウムアツセイ(MTA)
によるウイルス細胞変性および薬剤活性の
量化

XTT-PMS溶液は、培養皿[1mg/ ml XTT; FCSを含まない培地中の、2,3-ビス(2-メトキシ-4-ニトロ-5-スルホフェニル)-5-(フェニルアミノ)カルボニル-2H-テトラゾリウムヒドロキシド溶液]のウェルに加える直前に

(-)14aを、ウェルの水平方向の列に置き、そして選択された濃度のAZT、リバビリン、CS-87、ddTまたはd4Tを垂直方向の列に置いた。下記濃度の14aまたは(-)14aを用いた($\mu\text{g}/\text{ml}$) : 0.032、0.1、0.32、1.0、3.2、10および32。下記濃度のAZT、リバビリン、CS-87 ddTまたはd4Tを用いた($\mu\text{g}/\text{ml}$) : 0.01、0.032、0.1、0.32、1.0、3.2、10および32。

薬剤を上記濃度の約4倍に調製し、下記の方法でプレートに加えた。プレートの幅の濃度あたり、2つのウェルを用いて、0.05 ml の14aまたは(-)14a濃度をウェルに加えた。次に、0.05 ml のAZT、リバビリン、CS-87、ddTまたはd4T濃度を垂直方向の列のウェルに加えた。次に0.1 ml のウイルス感染した細胞を各ウェルに加えた。従って、各ウェル中の総容量は0.2 ml であり、そして各薬剤の最終的な濃度は0.05/0.2であり、最終濃度とした。

調製される。ストックPMS溶液(フェナジンメトスルフェート(15.3mg PMS/ ml FBSを1:100(0.153 ml/ml)に希釈する。希釈されたPMS(40 μl)をプレートへの添加後の最終的なPMS濃度が0.02 mM となるのに必要なXTTの各 ml に加える。XTT-PMS混合物(50 μl)を適当なウェルのそれに加える。プレートを37°Cで4時間インキュベートする。プレートのふたをはずし、そして接着性プレートシーラー(Dynatech cat # 001-010+3501)に置き代えた。このシールされたプレートを逆にし、ELISAプレートリーダーに据えて450nmで読みとる。

3. 組み合わされた薬剤アツセイのための方法

アツセイを96-ウェル細胞培養プレート中で行なう。

これらのプレートは、幅が12ウェル(1~12と番号付けした)で、厚み8ウェル(A-Hと名付けた)を有する。選択された濃度の14aまたは

使用した細胞は、MT2またはCBM細胞系である。ウイルス感染した細胞は、上記の第2部に記載のようにして調製した。細胞培養培地は第2部に記載のように10%(v/v)ウシ胎児血清を含有するRPMI 1640である。培地はさらに、ペニシリン(100ユニット/ ml)およびストレプトマイシン(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)を含有した。

追加のプレートが、毒性評価のためのアツセイに含まれ上記記載のよう単価された。各薬のみを含有するプレートもまた含まれた。未感染の細胞(細胞コントロール)およびウイルス感染細胞(ウイルスコントロール)が各プレート中に含まれた。

プレートを、空気-5%CO₂の温らせた雰囲気下、37°Cで7日間インキュベートした。ウイルス細胞変性および薬剤活性の量化のために、上記の第2部のプロトコルを続けた。

アツセイからのデータは、細胞生死判別の尺

度である。各ウエルに対する光学密度(O.D.)値を成す。各回のウエル群の平均を、細胞コントロール群の平均(より少ないバツクグラウンド)で割って、細胞コントロールのパーセントを得た。これらの値は、第2~8図に示すように、イソボログラム分析により、統計的に各薬剤を単独で使用した場合と組み合わせて使用した場合の保護効果を比較するために用いた。

4. 結論

14aまたは(-)14aとAZT、14aとリバビリン、(-)14aとCS-87、そして(-)14aとd4Tのそれぞれ組み合わせた場合の抗ウイルスステークは、はつきりと有意性を示し、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)に対して、これらの共作用的な組み合わせを行なうことによりこれらの何れかの薬剤を単独で用いた場合よりもより大きな抗ウイルス活性が達成される。さらに、低濃度のこれらの抗ウイルス剤を組み合わせて、HIV-誘発細胞

れる。

<u>1錠あたりのmg</u>	
A Z T	100
式(I)の化合物	150
ラクトースB.P.	210
ポビドンB.P.	15
ナトリウムスターーチグリコレート	20
ステアリン酸マグネシウム	5
	<u>500</u>

B. 下記製剤は、直接圧縮することにより製造される。ラクトースは直接圧縮用である。

<u>1錠あたりのmg</u>	
A Z T	100
式(I)の化合物	150
ラクトース	145
アビセル	100
ステアリン酸マグネシウム	5
	<u>500</u>

変性の抑制において、それらを単独で用いた場合は、かなり高濃度の剤を用いて得られたのと同程度の効果を達成するために、使用することができる。すなわち、抗ウイルス剤の潜在的な毒性の減少およびこれらの抗ウイルス剤の潜在的な治療価の有意な増加は、それらの薬剤を単独で用いる場合よりはむしろ組み合わせて用いる場合に達成される。これらの観察により、現代の治療モダリティーを越えてAIDSおよびAIDS関連合併症(ARC)の患者の改良された治療において、直接の臨床上の有用性を有することが証明された。

実施例 18

被 剤

A. 下記製剤は、水中のポビドン溶液を用いて下記成分を混式顆粒形成させ、乾燥し、ふるいにかけ、統いてステアリン酸マグネシウムを添加し、そして圧縮することにより製造さ

実施例 19

カプセル剤

カプセル剤は、下記成分を混合し、そして2パート硬ゼラチンカプセル中に充てんすることによりカプセルを調製する。

<u>1カプセルあたりのmg</u>	
A Z T	50
式(I)の化合物	75
ラクトース	72.5
アビセル	50
ステアリン酸マグネシウム	2.5
	<u>250</u>

実施例 20

注射用製剤

A Z T	0.100g
式(I)の化	0.100g
0.1M水酸化ナトリウム溶液	適量加えてpH約11とする
滅菌水	適量加えて全量10mlとする

活性成分を滑らかの水(加温してもよい)に懸濁させ、そして水酸化ナトリウム溶液を用いてpH約11に調整する。次にこのバッヂを所定量となし、そして滅菌分級メンブランフィルターを通して過して無菌の10mlガラスバイアル中に充てんし、滅菌クロージャーおよびオーバーシールで密封する。

実施例 21

坐薬

<u>坐薬1個あたりのmg</u>	
AZT	100
式(I)の化	150
硬質脂肪	1770
	2020

硬質脂肪の1/3を蒸気ジャケット付き鍋で最高45℃で融解させる。活性成分を200μmのふるいに通し、そして融解した基剤中に滑らかな分散物が得られるまで高剪断搅拌機を用いて混合

するためのイソボログラムである。

第4図は、化合物14a、AZTおよびその組み合わせによるMT2細胞におけるHIVの複製を50%抑制するためのイソボログラムである。

第5図は、化合物(-)14a、AzddUrd(CS-87)およびその組み合わせによるCEM細胞におけるHIVの複製を50%抑制するためのイソボログラムである。

第6図は、化合物(-)14a、dddTd (d4T)およびその組み合わせにおけるCEM細胞におけるHIVの複製を50%抑制するためのイソボログラムである。

第7図は、化合物(-)14a、ddIおよびその組み合わせによるCEM細胞におけるHIVの複製を50%抑制するためのイソボログラムである。

第8図は、化合物(-)14a、AZTおよびその組み合わせによるCEM細胞におけるHIVの複製を50%抑制するためのイソボログラムである。

しながら加える。この混合物を45℃に維持しながら、残りの硬質脂肪を加え、そして均質な混合物となるまで搅拌する。この懸濁液全体を250mlのステンレス鋼製ふるいに通し、そして搅拌を繼續しながら、40℃に冷却せしめる。38℃～40℃でこの混合物2.02gを適当な2mlのプラスチック型に充てんする。この坐薬を室温まで冷却させる。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、HIVに未感染の細胞と感染した細胞の両方に関して、14aの濃度に対してプロットした。14aにさらした細胞/コントロール細胞(%)のグラフである。

第2図は、化合物14a、リバビリンおよびその組み合わせによるCEM細胞におけるHIVの複製を25%抑制するためのイソボログラムである。

第3図は、化合物14a、AZTおよびその組み合わせによるMT2細胞におけるHIVの複製を40%抑

図面の添付(内容に変更なし)

FIG. 1

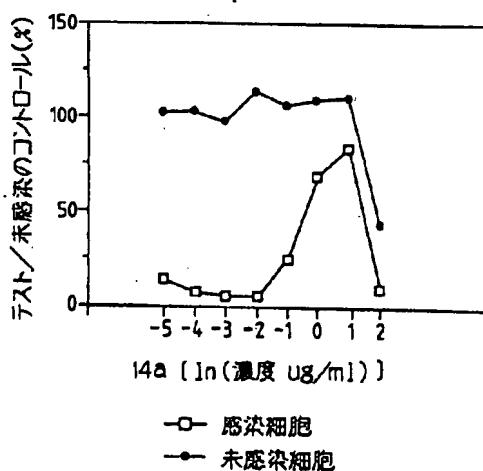


FIG. 2

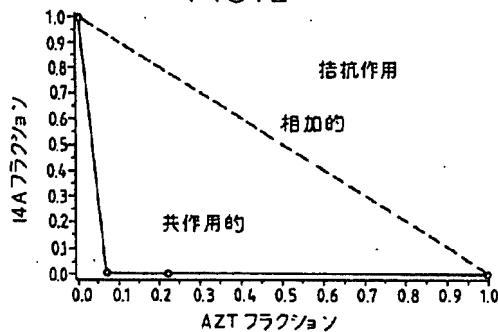


FIG. 4

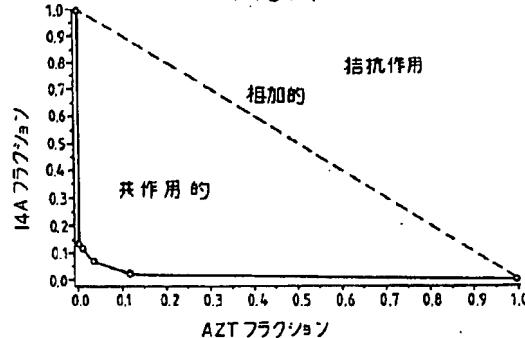


FIG. 3

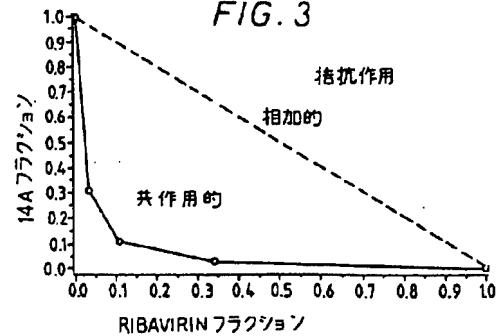


FIG. 5
(-)14aおよびCS-87によるCEM細胞中におけるHIV-1の複製を50%抑制するためのイソボログラム

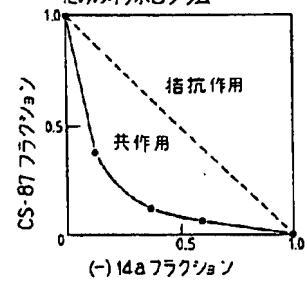


FIG. 6

(-)14aおよびd4TによるCEM細胞中におけるHIV-1の複製を50%抑制するためのイソボログラム

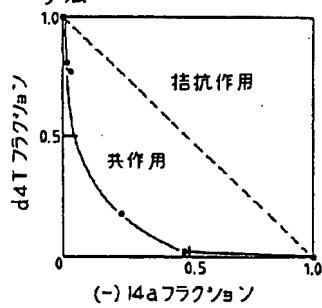


FIG. 8

(-)14aおよびAZTによるCEM細胞中におけるHIV-1の複製を50%抑制するためのイソボログラム

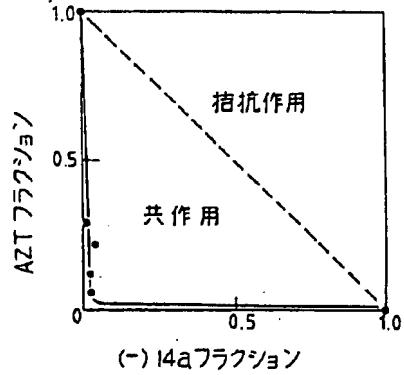
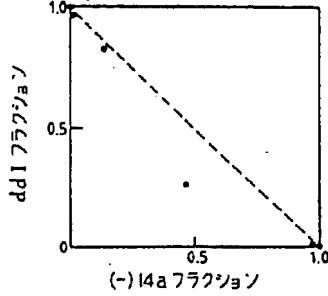


FIG. 7

(-)14aおよびddIによるCEM細胞中におけるHIV-1の複製を50%抑制するためのイソボログラム



第1頁の続き

⑤Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号
// C 07 D 405/04		6742-4C
473/06		8829-4C
473/16		8829-4C
473/18		8829-4C
473/22		8829-4C
473/24		8829-4C
473/28		8829-4C
473/30		8829-4C
473/32		8829-4C
473/34	3 2 1	8829-4C
	3 6 1	8829-4C
473/38		8829-4C
473/40		8829-4C
(A 61 K 31/52		
31:655		7375-4C
31:505)		7375-4C

⑥発明者 ウィリアム・エム・シ

ヤノン ライムロツクロード2212

⑦出願人 サザーン・リサーチ・
インスティテュート アメリカ合衆国アラバマ州(35255)バーミングハム。ナ
インスアベニューサウス2000

手続補正書(方式)

7.補正の内容

平成1年10月4日

別紙のとおり以下の書面を提出します。

特許庁長官 吉田文毅

1) 特許出願人の代表者氏名を記載した証書

1.事件の表示

平成1年特許願第145534号

2) 委任状およびその訳文

2.発明の名称

3) 証書に最初に添付した図面の添書(内容に変

更なし)

以上

3.補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 アメリカ合衆国ミネソタ州(55455)ミネアポリス、
チャーチストリートサウスイースト100

名称 リージヤンツ・オブ・ザ・ユニバーシティ・オブ・
ミネソタ

(外1名)

4.代理人

住所 東京都千代田区麹町3丁目2番地(相互第一ビル)

電話 (261) 2022

氏名 (9173) 高木千 (代理人)
(2名)

5.補正命令の日付

平成1年9月11日(発送日 平1.9.26)

6.補正の対象

証書の特許出願人の権、代理権を証明する
書面および図面

特許庁

1.10.4